

Células MLE-12 | 305314**Informações gerais****Description**

A MLE-12 é uma linha celular epitelial pulmonar murina estabelecida a partir do epitélio respiratório distal, utilizando ratinhos transgênicos que expressam o antígeno tumoral grande do vírus símio 40 (SV40) sob o controle do promotor da proteína C do surfactante humano (SP-C). Esta linha celular é caracterizada pela sua capacidade de manter certas propriedades das células alveolares do tipo II, como a expressão das proteínas surfactantes SP-B e SP-C, que são cruciais para a síntese do surfactante pulmonar e para a função pulmonar. As células MLE-12 também apresentam as principais características morfológicas das células alveolares de tipo II, incluindo microvilosidades e corpos multivesiculares, embora lhes faltem algumas características como os corpos lamelares em passagens posteriores.

A linha celular MLE-12 é amplamente utilizada para estudar a regulação da proteína surfactante, a secreção e as respostas pulmonares a estímulos. Secreta fosfolípidos em resposta a vários secretagogos, como o ATP e os ésteres de forbol, imitando aspectos da função das células alveolares do tipo II. Embora esta secreção seja robusta nas primeiras passagens, diminui em passagens posteriores, juntamente com alterações nas respostas mediadas por receptores. Este modelo é particularmente valioso para explorar os mecanismos subjacentes às síndromes de dificuldade respiratória e às deficiências de surfactante. Além disso, a linha celular oferece conhecimentos sobre a carcinogênese pulmonar, dada a sua derivação da tumorigênese provocada pelo SV40.

As células MLE-12 servem como ferramenta para elucidar as vias de processamento da proteína surfactante e testar estratégias terapêuticas para a substituição do surfactante. A sua manutenção da expressão de SP-C, um marcador específico do epitélio alveolar, torna-as um modelo in vitro relevante para a investigação de processos e doenças específicos do pulmão.

Organism

Rato

Tissue

Pulmão

Disease

Normal

Synonyms

MLE 12, MLE12, Epitelial pulmonar murino-12

Caraterísticas**Breed/Subspecies**

FVB/N-Tg(SFTPC-TAg)5.1Jaw transgênico

Age

5 meses

Gender

Feminino

Morphology

De tipo epitelial

Cell type

Célula epitelial

Células MLE-12 | 305314

Growth properties Aderente

Dados regulamentares

Citation MLE-12 (número de catálogo Cytion 305314)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_3751

GMO Status GMO-S1: Esta linha de células epiteliais pulmonares murinas (MLE-12) contém uma construção de antigénio T do SV40 introduzida por transfecção, que suporta a imortalização de células epiteliais pulmonares primárias. A inserção está integrada de forma estável. Esta classificação aplica-se apenas na Alemanha e pode ser diferente noutros países.

Dados biomoleculares

Protein expression Genes expressos: proteínas B e C do surfactante pulmonar (SP-B, SP-C)

Tumorigenic Sim, em ratinhos nus

Viruses Transformante: Vírus símio 40 (SV40)

Manuseamento

Culture Medium DMEM, com: 4,5 g/L de glucose, com: 4 mM de L-Glutamina, com: 3,7 g/L de NaHCO₃, com: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo Cytion 820300a)

Supplements Completar o meio com 10% de FBS

Dissociation Reagent Accutase

Células MLE-12 | 305314

Subculturing Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.

Fluid renewal 2 vezes por semana

Freeze medium Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a 300 x g durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Células MLE-12 | 305314

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating Nenhum

Freezing Procedure As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Shipping Conditions As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

Sterility A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspeções visuais diárias.